

27.09.2004



REC'D 11 OCT 2004	
WIPO	PCT

Ministero delle Attività Produttive

Direzione Generale per lo Sviluppo Produttivo e la Competitività

Ufficio Italiano Brevetti e Marchi

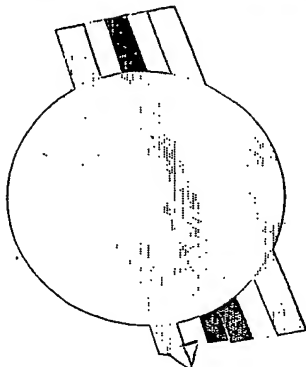
Ufficio G2

**Autenticazione di copia di documenti relativi alla domanda di brevetto per:
INVENZIONE INDUSTRIALE N. RM 2003 A 000394
depositata il 12.08.2003**



Si dichiara che l'unità copia è conforme ai documenti originali depositati con la domanda di brevetto sopra specificata, i cui dati risultano dall'accluso processo verbale di deposito.

Roma li.....17.2.2004



**PRIORITY
DOCUMENT**
SUBMITTED OR TRANSMITTED IN
COMPLIANCE WITH RULE 17.1(a) OR (b)

IL FUNZIONARIO

.....
Giampietro Carlotto
Giampietro Carlotto

BEST AVAILABLE COPY

AL MINISTERO DELL'INDUSTRIA DEL COMMERCIO E DELL'ARTIGIANATO

MODULO A

UFFICIO ITALIANO BREVETTI E MARCHI - ROMA

DOMANDA DI BREVETTO PER INVENZIONE INDUSTRIALE. DEPOSITO RISERVE, ANTICIPATA ACCESSIBILITÀ AL PUBBLICO

marca
da
bollo

A. RICHIEDENTE (1)

MARIA GABRIELLA SANTORO

N.G.

1) Denominazione

Via Vasto, 8 - 83100 AVELLINO

Residenza

codice

SNTMGB51H57F839M

2) Denominazione

Residenza

codice

B. RAPPRESENTANTE DEL RICHIEDENTE PRESSO L'U.I.B.M.

Ing. Cinquantini Bruno ed Altri

cognome nome

cod. fiscale

denominazione studio di appartenenza

NOTARBARTOLO & GERVAZI S.P.A.

via

Savoia

n. 82

città ROMA

cap 00198

(prov) RM

C. DOMICILIO ELETTIVO destinatario

C.S.

via

n. 1111

città

cap

(prov)

D. TITOLO

classe proposta (sez/cl/sci)

gruppo/sottogruppo

Uso dell'Indometacina e derivati come farmaci antivirali e relative composizioni farmaceutiche.

ANTICIPATA ACCESSIBILITÀ AL PUBBLICO: SI ☐ NO ☒

SE ISTANZA: DATA

N° PROTOCOLLO

E. INVENTORI DESIGNATI

cognome nome

cognome nome

1)

SANTORO Maria Gabriella

3)

2)

4)

F. PRIORITÀ

nazione o organizzazione

tipo di priorità

numero di domanda

data di deposito

allegato
S/R

1)

nessuna

2)

SCIoglimento RISERVE

Data

N° Protocollo

G. CENTRO ABILITATO DI RACCOLTA COLTURE DI MICROORGANISMI, denominazione

H. ANNOTAZIONI SPECIALI

nessuna

DOCUMENTAZIONE ALLEGATA

N. es.

Doc. 1)

11

PROV

n. pag

17

Doc. 2)

11

PROV

n. tav.

01

Doc. 3)

11

RIS

Doc. 4)

11

RIS

Doc. 5)

11

RIS

Doc. 6)

11

RIS

Doc. 7)

11

riassunto con disegno principale, descrizione e rivendicazioni (obbligatorio 1 esemplare)

disegno (obbligatorio se citato in descrizione, 1 esemplare)

lettera d'incarico, procura o riferimento procura generale

designazione inventore

documenti di priorità con traduzione in italiano

autorizzazione o atto di cessione

nominativo completo del richiedente

8) attestati di versamento, totale lire

Euro Centottantotto/51

obbligatorio

COMPILATO IL 11/08/2003

FIRMA DEL(1) RICHIEDENTE (1)

Ing. Bruno CINQUANTINI della

CONTINUA SI/NO NO

NOTARBARTOLO & GERVAZI S.P.A.

DEL PRESENTE ATTO SI RICHIEDE COPIA AUTENTICA SI/NO SI

CAMERA DI COMMERCIO L.A.A. DI

RM 2003 A 000394 ROMA

codice 158

VERBALE DI DEPOSITO

NUMERO DI DOMANDA

Reg.A

L'anno millenovecento

Duemilatre

il giorno

dodici

del mese di

agosto

il(i) richiedente(i) sopraindicato(i) ha(hanno) presentato a me sottoscritto la presente domanda, corredata di n. 100 fogli aggiuntivi per la concessione del brevetto sopraindicato.

I. ANNOTAZIONI VARIE DELL'UFFICIALE ROGANTE

IL DEPOSITANTE

Immo Baldassarri



L'UFFICIALE ROGANTE

Antonio Salvo

RIASSUNTO INVENZIONE CON DISEGNO PRINCIPALE

NUMERO DOMANDA

NUMERO BREVETTO

RM 2003 A 000394

DATA DI DEPOSITO

12/08/2003

DATA DI RILASCIO

/ /

A. RICHIEDENTE (I)

Denominazione

Residenza

D. TITOLO

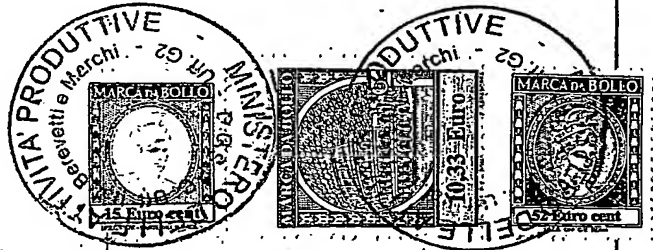
Uso dell'Indometacina e derivati come farmaci antivirali e relative composizioni farmaceutiche.

Classe proposta (sez./cl./scl/)

(gruppo/sottogruppo)

L. RIASSUNTO

Oggetto della presente invenzione è l'impiego di indometacina (INDO) e suoi derivati e sali come antivirali in quanto è stato trovato che INDO, è in grado di stimolare una risposta di difesa antivirale delle cellule quando queste sono attaccate dal virus. Questa azione si evidenzia in presenza sia di INDO da sola che in combinazione con altri composti ad esempio a base Zn, prostanoidi e chemioterapici antivirali, verso i quali INDO svolge una inaspettata quanto efficace azione sinergica.



M. DISEGNO

RM 2003 A 000397

Descrizione

della domanda di brevetto per Invenzione Industriale dal titolo: " Uso dell'Indometacina e derivati come farmaci antivirali e relative composizioni farmaceutiche."

a nome di Maria Gabriella Santoro

con sede in Avellino

Inventori designati: Maria Gabriella Santoro

* * * * *

CAMPO DELL'INVENZIONE

La presente invenzione si riferisce all'uso dell'Indometacina e derivati come farmaci antivirali e relative composizioni farmaceutiche.

STATO DELL'ARTE

L'indometacina (INDO) è un composto noto (Merck Index 4852) e fa parte di una classe di prodotti [acidi α -(1-aroil-3-indolil)alcanoici] descritta in US 3161654. Essa è caratterizzabile dal punto di vista chimico come costituita da indolo e benzene, variamente sostituiti, legati fra loro attraverso un gruppo carbonile (C=O) sull'atomo di azoto dell'indolo.

Nel corso dei nostri studi sul ruolo dei metaboliti dell'acido arachidonico sulla replicazione virale abbiamo identificato alcune prostaglandine con potente azione antivirale. Una azione particolarmente efficace è stata da noi dimostrata in modelli sperimentali di infezione con virus parainfluenzali, influenzali, erpetici e rotavirus (Santoro MG, Trends in Microbiology, 5:276-281,1997). Per valutare se il blocco della sintesi delle prostaglandine avesse un effetto di stimolazione sulla replicazione

virale, abbiamo utilizzato l'Indometacina (INDO) come inibitore della ciclo-ossigenasi (COX), enzima che catalizza la reazione principale di sintesi delle prostaglandine. Date queste premesse, da questi studi ci si attendeva che l'INDO avesse un effetto di stimolazione della replicazione virale. Esiste un'ampia letteratura sugli effetti dell'INDO nell'infezione virale. Gli studi disponibili in letteratura, mentre in generale convergono su un effetto dell'INDO come anti-infiammatorio coadiuvante durante l'infezione virale, sono discordanti su un possibile effetto antivirale diretto di INDO. In alcuni modelli virali (ad es. virus vaccino e coxsackie) l'INDO è stata trovata inefficace o dannosa (Khatib R. et al., J. Infect. Dis. 162:997-998, 1990; Zavagno G. et al., J. Gen. Virol. 68:593-600, 1987), mentre in altri l'INDO era efficace nell'inibire la replicazione virale. In particolare un effetto antivirale di INDO è stato dimostrato in precedenza nel caso dell'infezione da virus della Stomatite Vescicolare (VSV) (Mukherjee PK et al., Virology 135:345-355, 1984), da HIV-1 (Bourinbaier AS et al., FEBS Lett. 360:85-88, 1995) e da alcuni herpesvirus (Tanaka J et al., Virology 163:205-208, 1988). Se ne deduce che l'attività antivirale di INDO andrebbe testata caso per caso in quanto le indicazioni della tecnica nota sono contraddittorie.

SOMMARIO DELL'INVENZIONE

La Richiedente ha ora trovato, e costituisce oggetto della presente invenzione, un effetto inaspettato dell'INDO, che è quello di stimolare una risposta di difesa antivirale delle cellule quando queste sono attaccate dal virus. Questa azione si evidenzia in presenza sia di INDO da sola che in combinazione con altri composti ad esempio a base Zn,

prostanoidi e chemioterapici antivirali, verso i quali INDO svolge una inaspettata quanto efficace azione sinergica.

Ulteriori oggetti dell'invenzione risulteranno evidenti dalla descrizione dettagliata dell'invenzione.

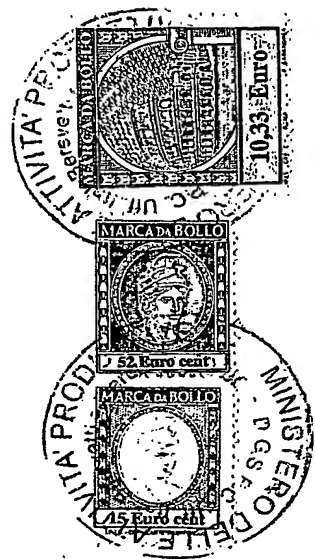
DESCRIZIONE DETTAGLIATA DELL'INVENZIONE

Nell'ambito della presente invenzione con il simbolo INDO si indicano composti, in particolare l'indometacina, costituiti da indolo e benzene, variamente funzionalizzati, legati fra loro attraverso un gruppo carbonile (C=O) sull'atomo di azoto dell'indolo, i derivati e sali essendo scelti fra quelli farmaceuticamente accettabili e sintetizzabili secondo le conoscenze del tecnico del ramo.

Qui di seguito si dimostra che l'INDO possiede un'azione antivirale ad ampio spettro a concentrazioni non tossiche per la cellula ospite (10-800 μM). Una concentrazione ottimale da 100 a 400 μM è stata dimostrata essere efficace indipendentemente dal tipo di cellula ospite, su 5 tipi diversi di virus sia ad RNA che a DNA. Nel caso dei virus a RNA, come illustrato in Tabella 1, una buona attività antivirale è stata dimostrata per i virus a RNA a filamento singolo sia di polarità negativa (virus parainfluenzale Sendai e virus dell'influenza A WSN) che di polarità positiva (coronavirus CCoV), e per i virus a RNA a doppio filamento (rotavirus SA-11). Inaspettatamente è stata dimostrata un'attività antivirale nell'infezione con virus dell'influenza A in cellule di polmone umano (Tab. 1). Inoltre, il trattamento con INDO risulta particolarmente efficace nel caso dell'infezione da rotavirus e da coronavirus (Tab. 1). E' di particolare rilevanza l'effetto antivirale nel caso dell'infezione da

coronavirus dove una concentrazione di INDO di 50 μ M inibisce la produzione di virus di oltre il 90% rispetto al controllo. Oltre alla notevole attività antivirale, per la prima volta è stata dimostrata una eclatante ed inaspettata attività citoprotettiva dell'INDO nell'infezione da virus parainfluenzale (Fig. 1A) e da coronavirus (Fig. 1B). Una analoga azione citoprotettiva è stata ottenuta in un modello di infezione con il rhabdovirus VSV (dati non mostrati). Per i virus a DNA, l'attività antivirale è stata riconfermata nel modello virus Herpes Simplex di tipo 1 (HSV-1) in cellule epiteliali HEp-2 (Tab. 2).

Sorprendentemente l'azione antivirale dell'INDO viene incrementata, anzichè inibita, dall'aggiunta di metaboliti dell'acido arachidonico di cui INDO è noto inibire la sintesi. In particolare risulta sorprendentemente efficace il trattamento in combinazione di INDO con il prostanoide Δ^{12} -PGJ₂ nel caso del virus dell'influenza. Infatti, il trattamento con dosi che, separatamente, provocavano una riduzione nella produzione di particelle infettanti di circa il 35%, se effettuate in combinazione causava una riduzione di oltre il 90% (Tab. 2). Questa inibizione perdura fino a 48 ore dopo l'infezione, tempo a cui l'INDO da sola è inefficace. Inaspettatamente l'effetto antivirale dell'INDO sul virus influenzale è incrementato dal trattamento contemporaneo con basse dosi di zinco somministrato come ZnCl₂ (Tab. 2) o sotto forma dei seguenti derivati comprendenti ma non limitati a: Zn solfato, Zn lattato, Zn iodato, Zn dietilditiocarbamato. Zn butil salicilato, Zn porfirin tetrakis metacloruro. Inoltre sorprendentemente il trattamento con INDO ha un effetto cooperativo con il chemioterapico antivirale Ribavirina (Tab. 2).



Risultati analoghi sono stati ottenuti in un modello di infezione da paramyxovirus, un virus che utilizza meccanismi di replicazione completamente distinti da quelli utilizzati dal virus influenzale. Anche in questo caso il trattamento combinato con INDO ed il prostanoide 15-deoxy-PGJ₂ a concentrazioni che separatamente riducono la produzione di progenie virale del 40 e 63% rispettivamente, riduceva il titolo del virus di oltre il 99% (Tab. 2). Risultati analoghi venivano ottenuti con il prostanoide PGA₁ (dati non mostrati). Anche in questo modello basse concentrazioni di zinco o suoi derivati causava un notevole aumento dell'efficacia del trattamento con INDO. Inoltre l'effetto di basse dosi di INDO è migliorato notevolmente dal co-trattamento con interferone α (IFN- α), che da solo è inefficace su questo virus quando somministrato dopo l'infezione (Tab. 2).

Un notevole effetto co-operativo del prostanoide PGA₁ con dosi basse di INDO è stato dimostrato anche nel caso di un virus a DNA, il virus HSV-1 (Tab. 2). Nel caso del virus HSV-1 è di particolare interesse un buon effetto co-operativo dello zinco sotto forma di ZnCl₂ (Tab. 2) o di suoi derivati (dati non mostrati) sull'azione antivirale dell'INDO a basse dosi. Infine è da sottolineare un notevole effetto co-operativo di INDO con basse dosi del chemioterapico antierpetico acyclovir (Tab. 2). L'effetto cooperativo di INDO nei vari modelli virali è atteso anche per un composto scelto fra, ma non limitato a: composti chemioterapici antivirali in particolare amantadina, rimantadina, inibitori della neuroaminidasi del virus influenzale, idoxuridina, acido fosfonacetico, AZT, DDC, inibitori di proteasi virali ed in particolare di HIV.

Infine l'aggiunta di INDO, anche ad alte dosi alla sospensione virale o durante l'adsorbimento del virus sulla cellula ospite non ha alcun effetto su nessuno dei virus sopraelencati, escludendo un effetto sui virione isolato. Inoltre, alle dosi attive antivirali, l'INDO non inibisce l'attivazione del fattore trascrizionale NF- κ B indotto dall'infezione virale e non attiva il fattore cellulare citoprotettivo HSF (Heat Shock Factor) (dati non mostrati). E' stata invece notata la sintesi della proteina da stress del reticolo endoplasmatico GRP78/BiP. I risultati riportati dimostrano che INDO è una molecola con attività antivirale ad ampio spettro, agendo sia su virus a RNA che a DNA indipendentemente dal tipo di cellula infettata.

I dati da noi ottenuti indicano che l'INDO non agisce sul virus isolato ma sulla cellula ospite con un meccanismo diverso dagli altri antivirali ad ampio spettro noti (interferone, ribavirina, prostanoidi ciclopentenonici). Questo è dovuto al fatto che: 1) l'INDO non è un analogo nucleosidico come la ribavirina; 2) l'INDO è efficace in cellule già infettate, al contrario dell'interferone che agisce solo se somministrato alla cellula prima dell'infezione; 3) al contrario dei prostanoidi, l'INDO alle concentrazioni efficaci su tutti i modelli di virus da noi studiati non inibisce il fattore NF- κ B e non attiva il fattore citoprotettivo HSF, da cui si evince che anche il meccanismo citoprotettivo durante l'infezione è diverso da quello usato per i prostanoidi ciclopentenonici.

In vista degli studi fatti e dei risultati ottenuti si propone INDO per il trattamento di una patologia scelta fra, ma non limitata a: citoprotezione tissutale; SARS; gastroenterite, in particolare infettiva e da Rotavirus;

febbri emorragiche, in particolare da Filovirus, Bunyavirus, Arenavirus, Flavivirus; patologie dell'apparato respiratorio, in particolare da coronavirus, virus parainfluenzale ed influenzale, virus respiratorio sinciziale; neoplasie di origine virale in genere, in particolare da virus HTLV-1, virus di Epstein-Barr, virus dell'Epatite B, virus dell'Epatite C, Papillomavirus, Adenovirus; patologie virali in genere, comprese quelle originate da virus geneticamente modificati, in particolare patologie virali prodotte da uno fra i virus scelti nel gruppo comprendente ma non limitato a: Herpesvirus, Picornavirus (Rhinovirus, Echovirus, Epatite A), virus dell'Epatite B, virus dell'Epatite C, Togavirus, Retrovirus (HIV, HTLV-1), Bunyavirus, Arenavirus, Rhabdovirus, Flavivirus, virus Parainfluenzali, virus Influenzali A, B, C, virus respiratorio sinciziale, Reovirus, Rotavirus, Coronavirus, Parvovirus, Adenovirus, Papovavirus, Papillomavirus, Poxvirus, Filovirus, virus del morbillo e della parotite.

Si propone l'uso di INDO per il trattamento di virus che causano in particolare patologie nei mammiferi, negli uccelli, nei pesci e nelle piante, quindi, in generale uso di INDO in campo veterinario, in agricoltura e in acquacoltura.

INDO in forma libera o nella forma di derivati o sali farmaceuticamente accettabili, può essere utilizzata, da sola o in miscela con i principi attivi sopra menzionati, per la preparazione di composizioni farmaceutiche seguendo metodi di preparazione convenzionali in campo farmacologico. Tali composizioni farmaceutiche possono essere formulate in maniera convenzionale, e possono comprendere uno o più eccipienti e/o diluenti farmaceuticamente accettabili e noti all'esperto del

Re

ramo. La somministrazione di tali composizioni è attuabile mediante qualsiasi via di somministrazione convenzionale, ad esempio per via parenterale in forma di soluzioni o sospensioni iniettabili, per via orale, per via topica, nasale, ecc.

Le formulazioni secondo l'invenzione includono compresse, capsule, pastiglie, soluzioni, dispersioni, sospensioni, formulazioni liposomali, microsfere, nanosfere, creme e unguenti, emulsioni e aerosol, spray e colliri, e possono essere preparate anche in modo da realizzare un rilascio controllato o ritardato del principio attivo.

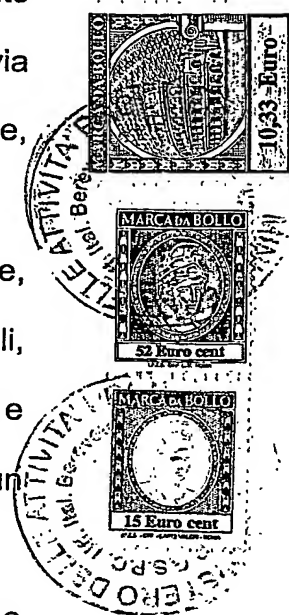
Le dosi e le modalità di somministrazione variano in funzione del tipo e della gravità della condizione patologica da trattare.

Inoltre, tali composizioni farmaceutiche possono eventualmente comprendere INDO in combinazione con altri principi attivi o coadiuvanti, scelti a seconda delle condizioni patologiche da trattare.

Si riportano i seguenti esempi, che fanno riferimento alle tabelle e alle figure allegate, sono forniti a scopo illustrativo ma non limitativo della presente invenzione.

ESEMPIO

La Tabella 1 mostra l'effetto dell'INDO sulla replicazione dei seguenti virus: paramyxovirus Sendai (SV), virus dell'influenza A (ceppo WSN), rotavirus (ceppo SA-11) e coronavirus (CCoV, ceppo S-378) rispettivamente in cellule di rene di scimmia 37RC (SV), cellule epiteliali di polmone umano A549 (WSN), cellule di rene di scimmia MA 104 (SA-11) e cellule di adenocarcinoma mammario di cane A-72 (CCoV). Monostrati confluenti di cellule coltivate in mezzo RPMI-1640 alimentato



con 5% FCS (siero fetale bovino) e antibiotici furono infettati con SV o WSN ($5 \text{ HAU}/10^5$ cellule), o con SA-11 o CCoV ($5 \text{ PFU}/\text{cell}$). Dopo un'ora a 37°C l'inoculo virale fu rimosso e le cellule furono mantenute a 37°C in mezzo RPMI-1640 contenente 2% FCS e differenti concentrazioni di INDO in etanolo o diluente di riferimento. I titoli virali furono determinati 24 ore dopo l'infezione mediante saggio standard di emoagglutinazione per i virus SV, WSN e SA-11, e saggio dell'effetto citopatico 50% ($\text{CPE}_{50\%}$) per il virus CCoV come descritto in F. Pica et al., *Antiviral Res.*, 20:193,1993. La produzione di virus è espressa come per cento del titolo virale nel controllo. I dati riportati in Tab. 1 sono la media di diversi esperimenti. IC_{50} è la concentrazione di INDO in μM che riduce il titolo virale del 50%. Nelle Fig. 1A e 1B è mostrato l'effetto citoprotettivo dell'INDO. In Fig. 1A sono mostrate le foto di cellule 37RC non infette (controllo), infettate con SV per 24 ore (SV), infettate con SV per 24 ore trattate con $400 \mu\text{M}$ di INDO (SV + INDO). In Fig. 1B sono mostrate le foto di cellule A-72 non infette (controllo), infettate con CCoV per 24 ore (CcoV), infettate con CCoV per 24 ore trattate con $400 \mu\text{M}$ di INDO (CCoV + INDO). In entrambi i modelli le cellule trattate con INDO sono protette dal devastante effetto citopatico prodotto del virus e appaiono simili al controllo non infetto.

La Tabella 2 mostra l'effetto del trattamento congiunto con INDO e chemioterapici antivirali, INDO e zinco, o INDO e prostanoidi ciclopentenonici, sulla replicazione dei seguenti virus: paramyxovirus Sendai (SV), virus dell'influenza A (ceppo WSN), virus Herpes Simplex di tipo 1 (HSV-1) rispettivamente in cellule di rene di scimmia 37RC

(SV), cellule epiteliali di polmone umano A549 (WSN) e cellule epiteliali della laringe umana HEp-2 (HSV-1). Monostrati confluenti di cellule coltivate in mezzo RPMI-1640 alimentato con 5% FCS e antibiotici furono infettati con SV o WSN ($5 \text{ HAU}/10^5$ cellule), o con HSV-1 (5 PFU/cell). Dopo un'ora a 37°C l'inoculo virale fu rimosso e le cellule furono mantenute a 37°C in mezzo RPMI-1640 contenente 2% FCS e differenti concentrazioni di INDO (alle dosi indicate) da solo od in combinazione con i chemioterapici antivirali interferone di tipo α (IFN), ribavirina (RIB) o acyclovir (ACY), o con zinco (ZnCl_2) o con i prostanoidi ciclopentenonici 15deoxy- Δ^{12-14} -PGJ₂ (15dx-PGJ₂), Δ^{12} -PGJ₂ o PGA₁, alle dosi indicate. I titoli virali furono determinati 24 ore dopo l'infezione mediante saggio di emoagglutinazione per i virus SV e WSN, e saggio CPE_{50%} per il virus HSV-1. La produzione di virus è espressa come percento del titolo virale nel controllo. I dati riportati sono la media di diversi esperimenti.

TABELLA 1

EFFETTO DEL TRATTAMENTO CON INDOMETACINA SULLA REPLICAZIONE DEL VIRUS SENDAI (SV), VIRUS DELL'INFLUENZA A (WSN), ROTAVIRUS (SA 11) E CORONAVIRUS (CCoV)

Indometacina μM^*	0	25	50	100	400	800	IC ₅₀
SV	100	87	75	60	0	0	130
WSN	100	100	100	100	50	7	400
SA 11	100	29	/	25	0	0	<25
CCoV	100	/	5.8	2.8	0.2	<0.03	<50

* LA PRODUZIONE DI VIRUS E' ESPRESSA COME TITOLO VIRALE (% DEL CONTROLLO)

TABELLA 2

EFFETTO DEL TRATTAMENTO CONGIUNTO (TC) CON INDOMETACINA E CHEMIOTERAPICI ANTIVIRALI, INDOMETACINA E ZINCO, INDOMETACINA E PROSTANOIDI CICLOPENTENONICI SULL'INFEZIONE CON VIRUS SENDAI (SV), VIRUS DELL'INFLUENZA A (WSN) E VIRUS HERPES SIMPLEX DI TIPO 1 (HSV-1)

SV	<table><tr><th>CONTROLLO*</th><th>INDO (100 μM)</th><th>IFN (5000 UI/ml)</th><th>TC</th></tr><tr><td>100</td><td>50</td><td>100</td><td>25</td></tr></table>				CONTROLLO*	INDO (100 μM)	IFN (5000 UI/ml)	TC	100	50	100	25	<table><tr><th>INDO (100 μM)</th><th>ZnCl₂ (50 μM)</th><th>TC</th></tr><tr><td>60</td><td>60</td><td>14</td></tr></table>				INDO (100 μM)	ZnCl ₂ (50 μM)	TC	60	60	14	<table><tr><th>INDO (100 μM)</th><th>15dx-PGJ₂ (1 μM)</th><th>TC</th></tr><tr><td>60</td><td>37</td><td>0,8</td></tr></table>				INDO (100 μM)	15dx-PGJ ₂ (1 μM)	TC	60	37	0,8
	CONTROLLO*	INDO (100 μM)	IFN (5000 UI/ml)	TC																												
100	50	100	25																													
INDO (100 μM)	ZnCl ₂ (50 μM)	TC																														
60	60	14																														
INDO (100 μM)	15dx-PGJ ₂ (1 μM)	TC																														
60	37	0,8																														
WSN	<table><tr><th>CONTROLLO</th><th>INDO (400 μM)</th><th>RIB (50 μM)</th><th>TC</th></tr><tr><td>100</td><td>67</td><td>58</td><td>33</td></tr></table>				CONTROLLO	INDO (400 μM)	RIB (50 μM)	TC	100	67	58	33	<table><tr><th>INDO (200 μM)</th><th>ZnCl₂ (50 μM)</th><th>TC</th></tr><tr><td>75</td><td>67</td><td>8</td></tr></table>				INDO (200 μM)	ZnCl ₂ (50 μM)	TC	75	67	8	<table><tr><th>INDO (400 μM)</th><th>Δ¹²-PGJ₂ (5 μM)</th><th>TC</th></tr><tr><td>67</td><td>67</td><td>6</td></tr></table>				INDO (400 μM)	Δ ¹² -PGJ ₂ (5 μM)	TC	67	67	6
	CONTROLLO	INDO (400 μM)	RIB (50 μM)	TC																												
100	67	58	33																													
INDO (200 μM)	ZnCl ₂ (50 μM)	TC																														
75	67	8																														
INDO (400 μM)	Δ ¹² -PGJ ₂ (5 μM)	TC																														
67	67	6																														
HSV-1	<table><tr><th>CONTROLLO</th><th>INDO (100 μM)</th><th>ACY (1 μM)</th><th>TC</th></tr><tr><td>100</td><td>9,7</td><td>7,7</td><td>0,4</td></tr></table>				CONTROLLO	INDO (100 μM)	ACY (1 μM)	TC	100	9,7	7,7	0,4	<table><tr><th>INDO (25 μM)</th><th>ZnCl₂ (50 μM)</th><th>TC</th></tr><tr><td>28,2</td><td>8,3</td><td>3,9</td></tr></table>				INDO (25 μM)	ZnCl ₂ (50 μM)	TC	28,2	8,3	3,9	<table><tr><th>INDO (25 μM)</th><th>PGA₁ (20 μM)</th><th>TC</th></tr><tr><td>38,1</td><td>9</td><td>0,6</td></tr></table>				INDO (25 μM)	PGA ₁ (20 μM)	TC	38,1	9	0,6
	CONTROLLO	INDO (100 μM)	ACY (1 μM)	TC																												
100	9,7	7,7	0,4																													
INDO (25 μM)	ZnCl ₂ (50 μM)	TC																														
28,2	8,3	3,9																														
INDO (25 μM)	PGA ₁ (20 μM)	TC																														
38,1	9	0,6																														

* LA PRODUZIONE DI VIRUS E' ESPRESSA COME TITOLO VIRALE (% DEL CONTROLLO)

RIVENDICAZIONI.

1. Impiego di INDO e suoi sali e derivati farmaceuticamente accettabili per la preparazione di composizioni farmaceutiche utili per trattamenti di citoprotezione tissutale.
2. Impiego di INDO e suoi sali e derivati farmaceuticamente accettabili per la preparazione di composizioni farmaceutiche utili per il trattamento della SARS (Severe Acute Respiratory Syndrome).
3. Impiego di INDO e suoi sali e derivati farmaceuticamente accettabili per la preparazione di composizioni farmaceutiche utili per il trattamento della gastroenterite, in particolare infettiva e da rotavirus.
4. Impiego di INDO e suoi sali e derivati farmaceuticamente accettabili per la preparazione di composizioni farmaceutiche utili per il trattamento di febbri emorragiche, in particolare da Filovirus, Bunyavirus, Arenavirus, Flavivirus.
5. Impiego di INDO e suoi sali e derivati farmaceuticamente accettabili per la preparazione di composizioni farmaceutiche utili per il trattamento di patologie virali, comprese quelle originate da virus geneticamente modificati.
6. Impiego di INDO e suoi sali e derivati farmaceuticamente accettabili per la preparazione di composizioni farmaceutiche utili per il trattamento di patologie virali prodotte da uno fra i virus scelti nel gruppo comprendente ma non limitato a: virus Parainfluenzali, virus Influenzali A, B, C, virus respiratorio sinciziale, Reovirus, Rotavirus, Coronavirus, Parvovirus, Adenovirus, Papovavirus, Papillomavirus, Poxvirus, Filovirus.



7. Impiego di INDO e suoi sali e derivati farmaceuticamente accettabili per la preparazione di composizioni farmaceutiche utili per il trattamento di patologie virali scelte nel gruppo comprendente ma non limitato a: sindrome respiratoria acuta; neoplasie di origine virale in genere, in particolare da virus HTLV-1, virus di Epstein-Barr, virus dell'Epatite B, virus dell'Epatite C, Papillomavirus, Adenovirus; morbillo, parotite.
8. Impiego di INDO secondo la riv. 5 in veterinaria, agricoltura e acquacoltura.
9. Impiego secondo le riv. 1-8 in cui INDO è somministrata a dosi comprese fra 10 e 1000 μM , preferibilmente fra 10 e 800 μM , più preferibilmente fra 100 e 400 μM .
10. Composizioni farmaceutiche comprendenti INDO in sinergia con quantità farmacologicamente attive di un composto scelto fra: INF- α , Zinco e suoi derivati, prostanoidi, chemioterapici antivirali, e relative miscele, per il trattamento di una patologia scelta fra, ma non limitata a: citoprotezione tissutale; SARS; gastroenterite, in particolare infettiva e da Rotavirus; febbri emorragiche, in particolare da Filovirus, Bunyavirus, Arenavirus, Flavivirus; patologie dell'apparato respiratorio, in particolare da Coronavirus, virus Parainfluenzale ed Influenzale, virus Respiratorio Sinciziale; neoplasie di origine virale in genere, in particolare da virus HTLV-1, virus di Epstein-Barr, virus dell'Epatite B, virus dell'Epatite C, Papillomavirus, Adenovirus; patologie virali in genere, comprese quelle originate da virus geneticamente modificati.

11. Composizioni secondo la riv. 10 in cui i prostanoidi sono scelti nel gruppo comprendente ma non limitato a: prostanoidi ciclopentenonici, in particolare PGA_1 , PGA_2 , PGJ_1 , PGJ_2 , più in particolare Δ^{12} - PGJ_2 , 15-deoxy- PGJ_2 ; i derivati di zinco sono scelti nel gruppo comprendente ma non limitato a: $ZnCl_2$, Zn solfato, Zn lattato, Zn iodato, Zn dietilditiocarbamato, Zn butil salicilato, Zn porfirin tetrakis metacloruro; i chemioterapici antivirali sono scelti nel gruppo comprendente ma non limitato a: Ribavirina, acyclovir, amantadina, rimantadina, inibitori della neuroaminidasi del virus influenzale, idoxuridina, acido fosfonacetico, AZT, DDC, inibitori di proteasi virali ed in particolare di HIV..

12. Composizioni secondo le riv. 10-11 in cui le patologie virali sono prodotte da uno fra i virus scelti nel gruppo comprendente ma non limitato a: Herpesvirus, Picornavirus (Rhinovirus, Echovirus, Epatite A), virus dell'Epatite B, virus dell'Epatite C, Togavirus, Retrovirus (HIV, HTLV-1), Bunyavirus, Arenavirus, Rhabdovirus, Flavivirus, virus Parainfluenzali, virus Influenzali A, B, C, virus Respiratorio Sinciziale, Reovirus, Rotavirus, Coronavirus, Parvovirus, Adenovirus, Papovavirus, Papillomavirus, Poxvirus, Filovirus, virus del morbillo e della parotite.

13. Impiego di INDO e suoi sali e derivati farmaceuticamente accettabili in combinazione con quantità farmacologicamente attive di $INF-\alpha$, Zinco e suoi derivati, prostanoidi, chemioterapici antivirali, e relative miscele, per il trattamento di una patologia scelta fra, ma non limitata a: citoprotezione tissutale; SARS; gastroenterite, in particolare infettiva e da Rotavirus; febbri emorragiche, in particolare da Filovirus, Bunyavirus, Arenavirus, Flavivirus; patologie dell'apparato respiratorio, in

particolare da Coronavirus, virus Parainfluenzale ed Influenzale, virus Respiratorio Sinciziale; neoplasie di origine virale in genere, in particolare da virus HTLV-1, virus di Epstein-Barr, virus dell'Epatite B, virus dell'Epatite C, Papillomavirus, Adenovirus; patologie virali in genere, comprese quelle originate da virus geneticamente modificati.

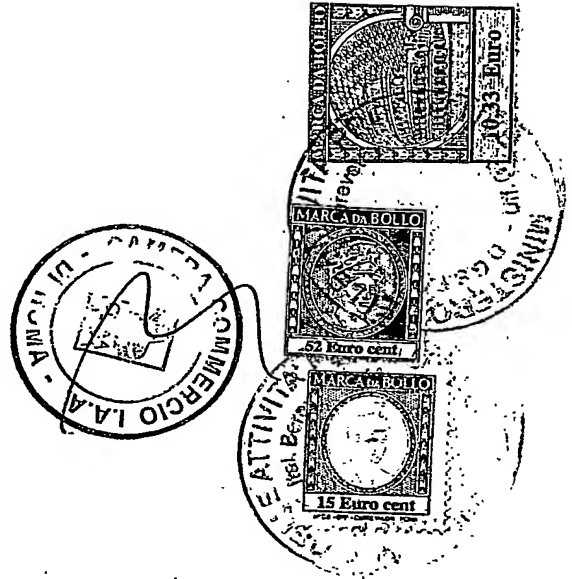
14. Impiego secondo la riv. 13 in cui i prostanoidi sono scelti nel gruppo comprendente ma non limitato a: prostanoidi ciclopentenonici, in particolare PGA_1 , PGA_2 , PGJ_1 , PGJ_2 , più in particolare Δ^{12} - PGJ_2 , 15-deoxy- PGJ_2 ; i derivati di zinco sono scelti nel gruppo comprendente ma non limitato a: $ZnCl_2$, Zn solfato, Zn lattato, Zn iodato, Zn dietilditiocarbamato, Zn butil salicilato, Zn porfirin tetrakis metacoloro; i chemioterapici antivirali sono scelti nel gruppo comprendente ma non limitato a: Ribavirina, acyclovir, amantadina, rimantadina, inibitori della neuroaminidasi del virus influenzale, idoxuridina, acido fosfonacetico, AZT, DDC, inibitori di proteasi virali ed in particolare di HIV.

15. Impiego secondo le riv. 13-14 in cui le patologie virali sono prodotte da uno fra i virus scelti nel gruppo comprendente ma non limitato a: Herpesvirus, Picornavirus (Rhinovirus, Echovirus, Epatite A), virus dell'Epatite B, virus dell'Epatite C, Togavirus, Retrovirus (HIV, HTLV-1), Bunyavirus, Arenavirus, Rhabdovirus, Flavivirus, virus Parainfluenzali, virus Influenzali A, B, C, virus Respiratorio Sinciziale, Reovirus, Rotavirus, Coronavirus, Parvovirus, Adenovirus, Papovavirus, Papillomavirus, Poxvirus, Filovirus, virus del morbillo e della parotite.

16. Impiego secondo le riv. 13-15 in veterinaria, agricoltura e acquacoltura.

/PV
Roma,

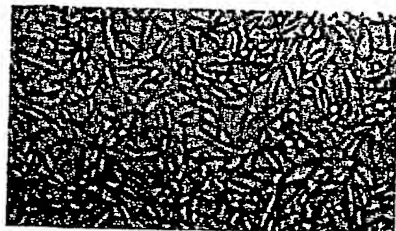
Per Maria Gabriella Santoro
Il Mandatario
Ing. Bruno Conquantini
Della NOTARBARTOLO & GERVASI SpA
B. Conquantini



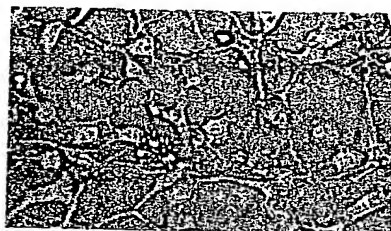
B. Cigantini

RM 2003 A 000397

Fig. 1A



Controllo



SV

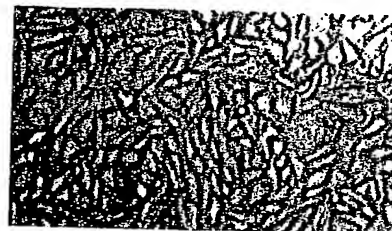
SV + INDO 400 μ M

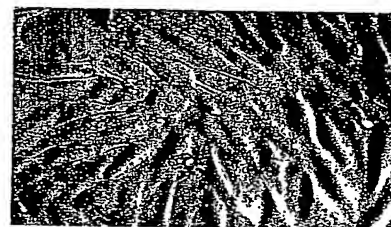
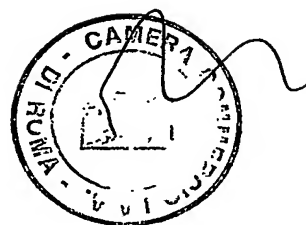
Fig. 1B



Controllo



CCoV

CCoV + INDO 400 μ M

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning
Operations and is not part of the Official Record**

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- ☒ **BLACK BORDERS**
- ☐ **IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES**
- ☐ **FADED TEXT OR DRAWING**
- ☐ **BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING**
- ☐ **SKEWED/SLANTED IMAGES**
- ☐ **COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS**
- ☐ **GRAY SCALE DOCUMENTS**
- ☐ **LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT**
- ☐ **REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY**
- ☐ **OTHER:** _____

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.